Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, Summer 2024, p. 339-352

Studying the Phytochemical Compounds of Ethanol and Ethyl Acetate Extracts of Three Ecotypes of *Artemisia aucheri*

S. Houshmand[1], S. Alizadeh-Salteh[2*], S. Bolandnazar[3], E. Aryakia[4]

1, 2 and 3- Ph.D. of Physiology of Production and Post-harvest of Horticultural Plants, Associate Professor and Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: s.a.salte@gmail.com)
4- Assistant Professor, Department of Plant Bank, Iranian Biological Resource Center (IBRC)(ACECR), Tehran, Iran

Received: 05-02-2023 Revised: 02-01-2024 Accepted: 03-01-2024 Available Online: 03-01-2024	**How to cite this article:** Houshmand, S., Alizadeh-Salteh, S., Bolandnazar, S., & Aryakia, E. (2024). Studying the phytochemical compounds of ethanol and ethyl acetate extracts of three ecotypes of *Artemisia aucheri*. *Journal of Horticultural Science, 38*(2), 339-352. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.80951.1233

Introduction

Taking into account Iran's unique meteorological and biological characteristics due to its geographic position. This has contributed to the variety and abundance of plant species cultivated there. The *Artemisia* species, which are among Iran's most valuable plants, are members of the *Asteraceae* family and are found across the country in reasonably large numbers. Antioxidants now play an indisputable role in the food, pharmaceutical, and healthcare industries. Given that the antioxidant capability is greatly influenced by the kind of solvent used, the technique used to extract the plants that were harvested from each location, as well as other factors like the weather, altitude, and light. The substantial antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds and their protective significance in cancer illnesses are caused by these compounds' regenerative properties.

Materials and Methods

In this work, *Artemisia aucheri*, a medicinal plant, was gathered from Semnan, Mazandaran, and Isfahan in Iran, and the antioxidant activity of these ecotypes was assessed. In this study, the quantity of total phenol and flavonoids in polar (ethanol) and non-polar (ethyl acetate) extracts, as well as the proportion and diversity of essential oil components, were assessed. Antioxidant content was also determined using the DPPH and FRAP techniques.

Results and Discussion

The most active antioxidant is found in the Semnan ecotype. The polar solvent of ethanol showed the strongest inhibition whereas the non-polar solvent of ethyl acetate shown stronger reducing activity, proving the importance of the extraction solvent on antioxidant activity in various processes. The non-polar extract (ethyl acetate) from the Mazandaran ecotype had the greatest flavonoid concentration, while the polar extract (ethanol) from the Isfahan ecotype had the highest phenolic content. The ethanolic extract performed the best when assessing total phenol. The most crucial elements of essential oils are oxidized monoterpenes. Oxygenated monoterpenes are present in 54.82% of the Semnan ecotype, 38.81% of the Mazandaran ecotype, and 24.41% of the Isfahan ecotype. In comparison to other ecotypes, the Semnan ecotype exhibited the most oxygenated monoterpene compounds and the greatest number of essential oil-containing compounds.

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.80951.1233

Conclusion

These findings suggest that *A. aucheri* possesses abundant natural antioxidant sources and is useful in both the food and pharmaceutical industries. A key aspect is the act of extraction, which is focused on the extraction's goal. The solvent used during extraction significantly affects the outcomes. Regarding the chemical makeup of the compounds, the solvent's polarity directly affects the solutes that are extracted. Since phenolic chemicals are more attracted to polar solvents, they are found in plant samples. The kind of flavonoids found in plants and their degree of polarity determine the variation in the quantity of flavonoid content between polar and non-polar extracts. On the other hand, a variety of ecological, genetic, regional, and dietary variables may have contributed to the variation in phenolic contents, essential oils, and antioxidant chemicals found in the three analyzed ecotypes.

Keywords: Artemisia, DPPH, Non-polar extract, Phenol, Polar extract

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۳، ص. ۳۵۲-۳۳۹

بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی سه اکوتیپ گیاه دارویی درمنه کوهی (*Artemisia aucheri*)

سپیده هوشمند [1]- سعیده علیزاده سالطه [2]*- صاحبعلی بلند نظر [3]- الیاس آریاکیا [4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۳

چکیده

از جمله گیاهان با ارزش ایران، گونه‌های جنس *Artemisia* متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) می‌باشند که پراکندگی نسبتاً وسیعی در نقاط مختلفی از ایران دارند. با توجه به اینکه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی به‌میزان قابل توجهی با ماهیت حلال، روش استخراج گیاه جمع‌آوری شده از هر منطقه و نیز بستگی به پارامترهای زیادی از جمله آب‌وهوا، ارتفاع و نور دارد. در این مطالعه، گیاه دارویی درمنه کوهی با نام علمی *Artemisia aucheri* از سه ناحیه مختلف ایران (سمنان، مازندران و اصفهان) در سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی این اکوتیپ‌ها ارزیابی شد. در این تحقیق، خواص دارویی از جمله محتوای آنتی‌اکسیدانی (با دو روش DPPH و FRAP)، مقدار فنل کل و فلاونوئید در عصاره‌های قطبی (اتانول) و غیرقطبی (اتیل استات) و درصد و تنوع ترکیبات اسانس مورد ارزیابی قرار گرفت. اکوتیپ سمنان دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدان (۹۵/۱۵ درصد) می‌باشد. حلال غیرقطبی اتیل استات فعالیت احیاکنندگی بالاتری را نشان داده که این مورد بیانگر این است که نوع حلال مورد استفاده در عصاره‌گیری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار مؤثر می‌باشد. اکوتیپ اصفهان دارای بیشترین محتوای فنلی در عصاره قطبی (۶۲/۶۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و اکوتیپ مازندران بیشترین محتوای فلاونوئیدی را در عصاره غیرقطبی (۸/۵۲ میلی‌گرم معادل کورستین بر گرم وزن خشک) نشان داد. اکوتیپ سمنان دارای بیشترین ترکیبات مونوترپن اکسیژن‌دار، بیشترین ترکیب در اسانس را در بین دیگر اکوتیپ‌ها دارا بود. این نتایج بیانگر این مورد هستند که گونه *A. aucheri* دارای منابع غنی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوان داشته باشند. تنوع محتویات فنلی، ترکیبات اسانس و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در سه اکوتیپ مورد مطالعه می‌تواند به‌علت عوامل مختلف اکولوژیکی، ژنتیکی، جغرافیایی و فاکتورهای تغذیه‌ای باشد.

واژه‌های کلیدی: آرتمیزیا، DPPH، فنل، عصاره قطبی، عصاره غیرقطبی

مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز، در تمام فرهنگ‌ها و تمدن‌ها به‌عنوان یک منبع ارزشمند دارویی مورداستفاده قرار می‌گرفته است. امروزه توجه روزافزونی به گیاهان دارویی و مشتقات حاصل از آن به‌عنوان منابع با ارزش برای تولید مواد اولیه داروها جهت معرفی داروهای جدید و نیز روش‌های تفکیک و جداسازی عصاره‌های گیاهی و اسانس‌ها به اجزای مختلف براساس فعالیت بیولوژیک آن‌ها معطوف شده است (Hoareau & Dasilva, 1999). با توجه به موقعیت جغرافیایی کشور ایران که از تنوع اقلیمی و شرایط اکولوژیکی منحصربه‌فردی برخوردار می‌باشد، این امر منجر به تنوع و غنای گونه‌ای گیاهان روییده در آن گردیده است. این موضوع محققان زیادی را می‌طلبد تا این گیاهان را شناسایی و به بررسی خصوصیات آن‌ها در اقلیم‌ها بپردازند. در بین ویژگی‌های گیاهان دارویی، مطالعه جنبه‌های بیوشیمیایی آن‌ها مورد توجه خاصی قرار گرفته است.

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دکتری تخصصی تولید و پس از برداشت گیاهان باغی، دانشیار و استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: s.a.salte@gmail.com)
۴- استادیار، عضو هیأت علمی بانک گیاهی، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (ACECR) (IBRC)

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.80951.1233

گونه‌های جنس *Artemisia* متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) یکی از گیاهان باارزش ایران می‌باشند که بیش از ۴۰۰ گونه در سرتاسر جهان دارد که یکی از مهم‌ترین و گسترده‌ترین جنس‌های خانواده کاسنیان می‌باشد که دارای ۳۴ گونه در ایران است. این گیاهان که بومی یا اندمیک ایران هستند، در زبان فارسی درمنه نامیده می‌شوند (Taghavizadeh Yazdi *et al*., 2020). مرکز تنوع این گیاه آسیای مرکزی می‌باشد که شامل حدود ۱۵۰ گونه در چین، ۵۰ گونه در ژاپن و ۳۴ گونه در ایران است (Turuspekov *et al*., 2018). گونه‌های این جنس به‌دلیل سازگاری بالا با شرایط محیطی متفاوت از جمله، مقاومت در برابر کم‌آبی، مقاومت در برابر سرما و خشک‌سالی محیط، تأمین علوفه برای دام و حیات‌وحش از اهمیت زیادی برخوردار است. برخی از گونه‌های این جنس از نظر اقتصادی باارزش می‌باشند؛ در پزشکی، صنعت و به‌عنوان تثبیت‌کننده خاک استفاده می‌شوند (Bora & Sharma, 2011). این گیاه دارویی از نظر پراکنش جزء شاخص‌ترین و با اهمیت‌ترین جنس‌های گیاهی در فلور ایران محسوب می‌شود. گونه‌های مختلف جنس درمنه در ایران از نقاط پست نزدیک حاشیه دریای خزر گرفته تا ارتفاعات ۴۰۰۰ متری از سطح دریا گسترش یافته است (Bidgoli *et al*., 2013). درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss) یکی از گونه‌های معروف درمنه در ایران می‌باشد. گیاهی چند ساله، ساقه فخیم و چوبی، پرساقه که ساقه‌های بارور متعدد، اغلب از میانه منشعب می‌باشد. ارتفاع این گیاه ۲۵ تا ۶۵ سانتی‌متر به ثبت رسیده است. اغلب بدون کرک، دارای دمبرگ به‌طول تا دو سانتی‌متر، دو تا سه بار شانه‌ای بخش دیده می‌شوند. برگ‌های ساقه‌ای مشابه برگ‌های قاعده‌ای، اغلب بدون دمبرگ مشخص با رگبرگ میانی برجسته، نوک تیز می‌باشد (Mozaffarian, 2008). غالباً در شرایط بیش از ۳۰۰ میلی‌متر بارندگی سالیانه رشد می‌کند (Nasirpour *et al*., 2014). در بررسی‌های انجام‌شده میزان اسانس فرار در این گیاه ۰/۴ درصد گزارش شده است (Safari, 1994).

این گونه‌ها دارای یک نوع طعم یا بوی به‌خصوصی هستند که توسط مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها ایجاد می‌شود که دلیل کاربرد آن‌ها در طب سنتی و بومی می‌باشد. گونه‌های آرتمیزیا عملکردهای ضدالتهابی، تب‌بر و خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدمالاریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی دارند (Majdan *et al*., 2020). توجه به اینکه یکی از راهکارهای مؤثر در پیشگیری و کنترل ویروس‌ها همچنین ویروس‌های خانواده کرونا ویروس تقویت سیستم ایمنی است. محققان به این نتیجه رسیده‌اند که به‌دلیل خواص ضد باکتریایی و افزایش عملکرد سیستم ایمنی بدن، این گیاه می‌تواند به‌عنوان گزینه مناسبی جهت درمان بیماری‌های عفونی و نقص سیستم ایمنی مورد استفاده قرار گیرد (Mohabatkar *et al*., 2016). علی‌رغم موارد ذکرشده در بالا، عصاره‌های گیاهی در آسم، بیماری‌های پوستی، یبوست و همچنین، هضم معده نیز استفاده می‌شود (Sapkota, 2008). در طی تحقیقاتی که روی ۲۴۰ گونه از تیره *Asteraceae* جهت مشخص نمودن خواص دارویی آن‌ها انجام پذیرفته است، حدود ۸۴ ترکیب دارویی در گونه‌های *Artemisia* تشخیص داده شده است (Zheng & Wang, 2001).

کشور ایران دارای تنوع اکولوژیکی بسیار گسترده و غنی از گونه‌های گیاهی می‌باشد که متأسفانه مطالعات اندکی از نظر فیتوشیمیایی مخصوصاً در شرایط یکسان روی آن‌ها صورت پذیرفته است (Morshedloo *et al*., 2018).

عوامل محیطی تأثیرگذار بر روی متابولیت‌های ثانویه می‌باشند، به‌طوری‌که درصد اسانس به‌دست‌آمده از *Artemisia roxburghiana* var Basser جمع‌آوری شده از چند ارتفاع مختلف رابطه منفی معنی‌داری را بین ارتفاع و درصد اسانس گیاه نشان می‌دهد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار اسانس در ارتفاع ۱۲۱ متری و کمترین مقدار آن در ارتفاع ۲۰۲۵ متری گزارش شده است (Haider *et al*., 2009). حسینی و همکاران (Hosseini, *et al*., 2013) عامل ارتفاع را مهم‌ترین عامل محیطی در گسترش *A. aucheri* گزارش کرده‌اند. محتشم نیا (Mohtashamnia, 2012) نیز بیشترین پراکنش گونه *A. aucheri* را در گرادیان ارتفاعی ۲۲۰۰ تا ۲۴۰۰ متری گزارش کرده است و ارتفاع از سطح دریا را به‌عنوان عامل مهم در پراکنش این‌گونه بیان کرده است. وی همچنین اظهار دارد که عوامل فیزیوگرافی به همراه تأثیر میزان بارندگی در ارتفاعات نقش تعیین‌کننده در استقرار و پراکنش این‌گونه دارند.

شدت تابش و دما به‌علت تغییرات ارتفاع تحت تأثیر قرار می‌گیرد، که خود عامل مهمی در تشکیل متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌باشد. اقلیم هر منطقه همواره به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی کنترل‌کننده پوشش گیاهی مطرح بوده است. دو معیار اصلی اقلیم هر منطقه، بارندگی و دما هستند که هر دو تابعی از عامل ارتفاع می‌باشند. با توجه به اینکه ارتفاع رابطه‌ای مستقیم با میزان بارندگی و رابطه معکوس با دما دارد. به‌طور مثال، بررسی فنولوژی گونه *A. aucheri* نشان داده است که شروع رشد رویشی در ابتدای فصل رویش به شاخص دما و شاخص بارندگی فصل رشد و رطوبت خاک بستگی دارد (Rashvand *et al*., 2014; Ehsani *et al*., 2014).

بسیاری از بیماری‌های مزمن در افراد که با افزایش سن در ارتباط هستند، به‌صورت مستقیم با تنش یا تنش‌های اکسیداتیو درگیر بوده که این فرآیند ناشی از تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد یا ضعف سیستم دفاعی ارگانیسم مورد نظر است. از جمله این بیماری‌ها می‌توان

به تصلب شرائین، سکته مغزی، بیماری‌های عصبی و بیماری التهابی مزمن اشاره نمود (Bovicelli, 2010). رادیکال‌های آزاد و ROSها تنها زمانی مفید هستند که در زمان، مکان و مقدار مناسبی تولید شوند، در غیر این صورت می‌توانند مضر باشند. تنش اکسیداتیو به‌دلیل تولید بیش از اندازه رادیکال‌های آزاد و ذرات فعال اکسیژن و ضعیف شدن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌علت تولید کم آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن و یا افزایش استفاده از آن‌ها می‌باشد (Khalili & Ebrahimzadeh, 2015). ترکیبات فنولی موجود در گیاهان نظیر فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین‌ها مسئول توان آنتی‌اکسیدانی هستند (Gulcin, 2020). محصولات گیاهی برای اهداف بهداشتی و درمانی غربالگری شده‌اند، زیرا تعداد زیادی از مردم به‌طور آشکار و یا با استفاده سنتی از محصولات مختلف با منشأ گیاهی تمایل داشته‌اند. ترکیب شیمیایی این مواد بسته به شرایط محیطی از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است (Judzentiene, *et al*., 2009; Zhang *et al*., 2017).

با توجه به دلایلی که ذکر گردید، جمعیت‌های بومی گیاهان دارویی به‌ویژه جمعیت‌های وحشی از نظر ویژگی‌های مورفوفنولوژیکی و نیز شیمیایی ناهمگن هستند؛ بنابراین در صورت بهره‌برداری و وارد کردن یک‌گونه دارویی به صنعت هر استراتژی که در نظر گرفته شود، از جمله بهره‌برداری از رویشگاه‌های طبیعی، اهلی کردن (در مورد جمعیت‌های وحشی) و یا اصلاح (انواع کشت شده)، نیازمند شناسایی ماهیت، ویژگی‌های شیمیایی، تأثیرپذیری از محیط و سایر خصوصیات گونه دارویی مورد نظر می‌باشد تا گیاهانی بی‌خطر با میزان متابولیت مورد نیاز از نظر ترکیبات تولید شده برای کشت انبوه به کشاورزان معرفی شوند. با توجه به ناهمگنی جمعیت‌های گیاهی و حضور انواع تیپ‌های مختلف شیمیایی، باید با بررسی تنوع موجود در طبیعت و تهیه نقشه‌های پراکنش تیپ‌های شیمیایی، رویشگاه‌های مختلف از نظر تیپ‌های شیمیایی مختلف بررسی شوند تا خصوصیت شیمیایی منطقه مورد نظر مشخص گردد. همچنین در این مطالعه سعی می‌شود، درک درستی از گونه مهم جنس *Artemisia* با توجه ویژه به پتانسیل‌های دارویی و فیتوشیمی آن ارائه شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

جمع‌آوری گونه‌های مورد نظر طبق جدول ۱ از سه اکوتیپ مختلف صورت پذیرفت که برداشت این گیاهان در زمان تکمیل فاز رویشی کامل انجام گرفت، شناسایی ارقام در هرباریوم مرکز ذخایر ژنتیک ایران صورت پذیرفت و به‌روش سایه‌خشک در مجاورت جریان هوا در اتاق خشک گردیدند.

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های طبیعی نمونه‌های گیاهی
Table 1- The habitat properties of plant samples

کد Code	نام گونه Species	رویشگاه Province	ارتفاع از سطح دریا Altitude	طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	میانگین دمای سالیانه Annual Average Temperature (° C)	میانگین بارش سالیانه Annual Average Precipitation (mm)
1	*Artemisia aucheri* Boiss.	سمنان Semnan	2377	54º33'4.6"	36º28'48.1"	14.1	161.1
2	*Artemisia aucheri* Boiss.	مازندران Mazandaran	1178	53º00'23.8"	35º56'57.6"	17.6	656
3	*Artemisia aucheri* Boiss.	اصفهان Isfahan	2313	51º42'41.7"	31º12'4.8"	10.1	400

تهیه عصاره‌های گیاهی

جهت اندازه‌گیری‌های فیتوشیمیایی، خواص دارویی از جمله محتوای آنتی‌اکسیدانی (با دو روش DPPH و FRAP) از عصاره‌های قطبی (اتانول) و غیرقطبی (اتیل استات) استفاده گردید. جهت تهیه عصاره‌های قطبی و غیرقطبی از برگ‌های خشک گیاه درمنه به‌میزان یک گرم پس از توزین، توسط روش ماسراسیون یا خیساندن در مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه عصاره‌گیری انجام شد. عصاره‌های به‌دست آمده خشک شده و در شیشه استریل جمع‌آوری شد و در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد. برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه در این تحقیق از عصاره‌های قطبی (اتانول) و غیر قطبی (اتیل استات) استفاده شد.

تعیین میزان آنتی‌اکسیدان به‌روش DPPH

برای سنجش توان آنتی‌اکسیدانی از ۵۰ میکرولیتر از نمونه با غلظت های مختلف (۰/۲۵ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۳۵۰ میکرولیتر محلول DPPH (یک میلی‌مولار) حل گردید و سپس، با متانول ۱۰۰ درصد به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از نگهداری به‌مدت بیست

دقیقه در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر سنجش گردید(Brand-Williams, *et al.*,1995).

تعیین میزان آنتی‌اکسیدان به‌روش احیای آهن FRAP

برای سنجش توان احیایی عصاره از روش سنجش (Ferric Reducing Antioxidant Potential) FRAP استفاده شد (Benzie & Strain, 1996). این روش براساس افزایش جذب در طول موج ۵۹۳ نانومتر می‌باشد که در حضور مواد احیاکننده نمونه آزمایشی، کمپلکس آبی رنگ آهن دوظرفیتی تری پیکریدیل تریازین از آهن سه ظرفیتی بی‌رنگ به‌وجود می‌آید. محلول FRAP به‌صورت تازه و از مخلوط کردن به‌ترتیب بافر استات (۳۰۰ میلی‌مولار با پی اچ ۳/۶)، محلول TPTZ۱۰ (میلی‌مولار محلول TPTZ در ۴۰ میلی‌مولار محلول HCl)، محلول کلرید آهن ۲۰ میلی‌مولار ($FeCl_3.6H_2O$) به نسبت ۱۰:۱۰:۱۰۰ به‌دست آمد. سپس، ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه آزمایشی با ۱۸۰۰ میکرولیتر محلول FRAP مخلوط شد و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب نمونه قرائت شد. منحنی کالیبراسیون توسط محلول استاندارد $FeSO_4.7H_2O$ (غلظت ۲۰-۱ میکرومولار) به‌دست آمد. نتایج برحسب میکرومول آهن (دوظرفیتی) در گرم وزن خشک (µmol Fe^{2+}/g DW) بیان گردید. همه اندازه‌گیری‌ها FRAP وDPPH روش‌های در سه تکرار انجام گرفته و میانگین آن‌ها ثبت گردید.

تعیین مقدار فنل کل

محتوای ترکیبات فنلی در عصاره متانولی با استفاده از روش فولین سیکالچو با اندکی تغییرات نسبت به منبع اندازه‌گیری شد، درصورتی‌که هر نمونه جذبی بالاتر از جذب آخرین غلظت استاندارد داشت به نسبت مساوی رقیق گردید و اندازه‌گیری شد تا در رنج استاندارد قرار گرفت. ۲۰ میکرولیتر نمونه، استاندارد اسید گالیک، یا شاهد (آب مقطر یا دیونیزه) را در کویت ۲ میلی‌لیتری ریخته و به دنبال آن ۱/۵۸ میلی‌لیتر آب اضافه و به دنبال آن ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیلیکاتو (FC) ریخته و آن‌ها را مخلوط کرده و به‌مدت یک تا هشت دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از پنج دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. حجم نهایی در اینجا دو میلی‌لیتر می‌باشد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. محتوای ترکیبات فنلی معادل میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم ماده خشک (DW) محاسبه گردد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از اسید گالیک تهیه گردید (Bahukhandi *et al.*, 2013).

تعیین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی

محتوای فلاونوئید کل به‌روش کلرومتری براساس روش هوسو و همکاران (Hosu *et al.*, 2014) با اندکی تغییرات به شرح زیر اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۱۰۰ میکرولیتر آب اضافه مقطر، ۶۰۰ میکرولیتر متانول ۹۵ درصد، ۴۰ میکرولیتر $AlCl_3$ ۱۰ درصد، ۴۰ میکرولیتر استات پتاسیم یک مولار و در آخر ۱۱۲۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و به‌شدت شیک گردید. بعد از ۴۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر همراه با شاهد قرائت شد. نتایج معادل میلی‌گرم کورستین (QE) در ۱۰۰ گرم ماده خشک براساس منحنی استاندارد تهیه شده با کاتچین محاسبه گردید، منحنی کالیبراسیون با استفاده از کورستین تهیه گردید.

استخراج و اندازه‌گیری اسانس

مقدار ۴۰ گرم از هر نمونه گیاهی خرد و وزن شده و همراه با ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالون یک لیتری ریخته شد. سپس بالون به کلونجر وصل شده و به‌مدت سه ساعت روی هیتر طبق فارماکوپه بریتانیا قرار گرفت. بعد از گذشت این زمان هیتر خاموش شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه اسانس که به‌علت کمتر بودن چگالی آن از آب، روی سطح آب قرارگرفته بود؛ با سرنگ جمع‌آوری و توسط سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شدند. پس از آماده‌سازی اسانس و تزریق آن به دستگاه کوپل شده کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنج جرمی (GC-MS) ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مورد شناسایی کمّی و کیفی قرار گرفتند. آنالیز GC-MS روی یک سیستم GC-MS (Agilent, 19091S-443, USA) مجهز به ستون HP-5MS (30 m × 0.25 mm و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵میکرومتر) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این آزمایش، تست نرمال بودن داده‌ها و همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها (تجزیه واریانس به‌روش واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن) با نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 صورت گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه با استفاده از روش FRAP و DPPH توسط عصاره قطبی و غیرقطبی در جدول ۲ و ۳ آورده شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی

Table 2- Comparing the mean and standard deviation of DPPH antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts

	درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی علیه رادیکال DPPH (میانگین ± انحراف معیار[A]) (%)Antioxidant activity against DPPH radical (Mean ± SD[A])							
	اتانول Ethanol				اتیل استات Ethyl acetate			
(Code)[B]	1	2	3	total	1	2	3	total
	95.15 ± 1.31	88.73± 3.18	58.99 ±2.72	80.96± 2.41	71.04 ±3.69	64.52± 3.47	9.09± 1.59*	48.22± 2.92

[A] انحراف معیار، [B] کد استان، * حداقل مقدار، ** حداکثر مقدار

[A] Standard deviation. [B] Province code. * Minimum. ** Maximum

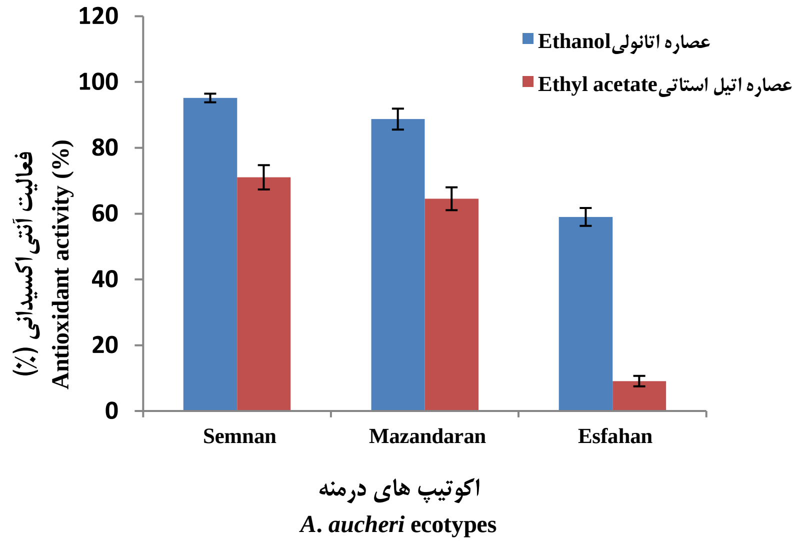
جدول ۳- مقایسه میانگین و انحراف معیار فعالیت آنتی‌اکسیدانی FARP عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی

Table 3- Comparing the mean and standard deviation of FARP antioxidant activity of ethanolic and ethyl acetate extracts

	فعالیت آنتی‌اکسیدانی علیه رادیکال FARP (میانگین ± انحراف معیار[A]) (میکرومول آهن دوظرفیتی بر گرم ماده خشک) Antioxidant activity against FARP radical (Mean ± SD[A]) (μmol Fe^{2+}/g DW)							
(Code)[B]	اتانول Ethanol				اتیل استات Ethyl acetate			
	1	2	3	total	1	2	3	total
	13.46± 0.61	11.55± 0.55	17.12 ±0.94	14.04± 0.70	18.54± 1.38	18.41± 1.09	17.65± 0.48	18.20± 0.99

[A] انحراف معیار، [B] کد استان، * حداقل مقدار، ** حداکثر مقدار

[A] Standard deviation. [B] Province code. * Minimum. ** Maximum



شکل ۱- ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره قطبی و غیرقطبی سه اکوتیپ گونه *A. aucheri* با روش DPPH

Figure 1- Evaluating the antioxidant potential of polar and non-polar extracts of 3 ecotypes of *A. aucheri* by DPPH method

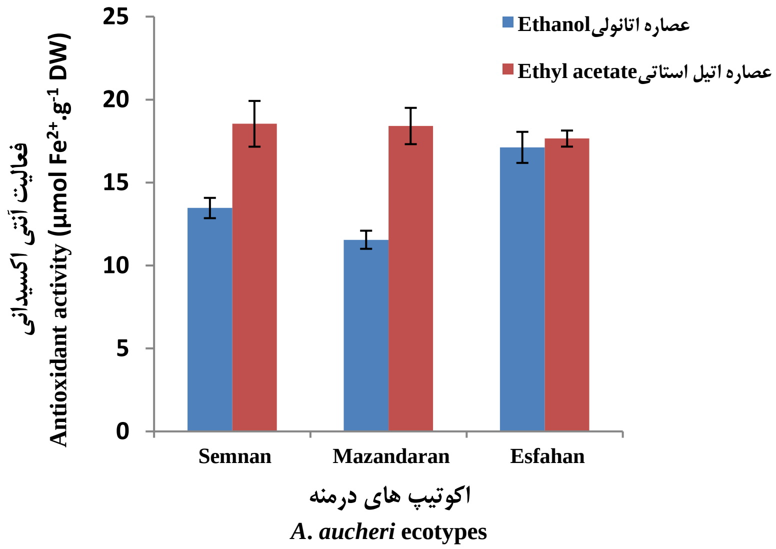
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (SE±) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error

با توجه به شکل ۱، در روش DPPH عصاره‌گیری توسط اتانول، اکوتیپ سمنان با ۱/۳۱± ۹۵/۱۵ درصد دارای بیشترین درصد بازداری را دارد. اکوتیپ مازندران با ۳/۱۸± ۸۸/۷۳ درصد و اکوتیپ اصفهان ۲/۷۱± ۵۸/۹۹ درصد بازدارندگی داشتند که در مقابل در عصاره‌گیری توسط اتیل استات، اکوتیپ سمنان با ۳/۶۹± ۷۱/۰۴ درصد، اکوتیپ مازندران ۳/۴۷± ۶۴/۵۲ درصد و اکوتیپ اصفهان با ۱/۵۸± ۹/۰۹ درصد به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار درصد بازدارندگی بودند. درروش FRAP با توجه به شکل ۲، عصاره‌گیری توسط اتیل استات به‌ترتیب، اکوتیپ سمنان با ۱/۳۷± ۱۸/۵۳، اکوتیپ مازندران ۱/۰۹± ۱۸/۴۰ و اکوتیپ اصفهان ۰/۴۸± ۱۷/۶۴ در مقایسه با عصاره‌گیری

توسط اتانول، اکوتیپ اصفهان با ۰/۹۳± ۱۷/۱۱، اکوتیپ سمنان ۰/۶۱± ۱۳/۴۶ و اکوتیپ مازندران با ۰/۵۴± ۱۱/۵۵ فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نشان می‌دهند.

طبق نتایج حاصل از بررسی فنل و فلاونوئید اکوتیپ‌های *A. aucheri* توسط عصاره قطبی و غیرقطبی در جدول ۴ به شرح زیر می‌باشد.



شکل ۲- ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره قطبی و غیرقطبی سه اکوتیپ گونه *A. aucheri* با روش FRAP

Figure 2- Evaluating the antioxidant potential of polar and non-polar extracts of 3 ecotypes of *A. aucheri* by FRAP method

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد(SE±) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error

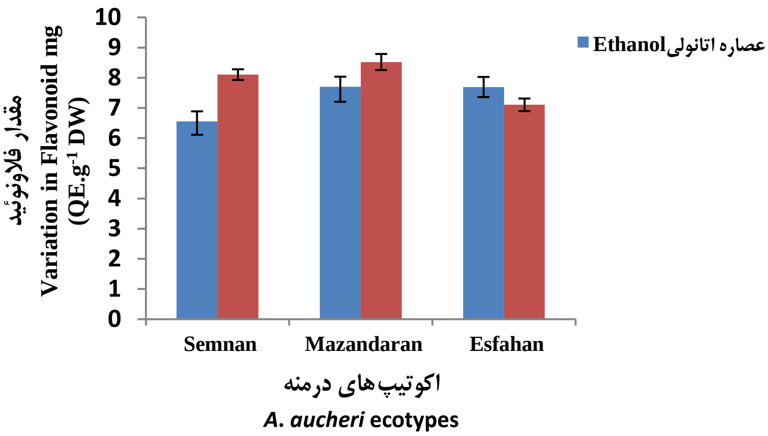
جدول ٤- مقایسه میانگین و انحراف معیار فنل و فلاونوئید عصاره‌های اتانولی و اتیل استاتی گونه‌های درمنه مورد بررسی

Table 4- Comparing the mean and standard deviation of phenol and flavonoids of ethanolic and ethyl acetate extracts of the investigated species

(Code)[B]	تغییرات فلاونوئید و فنول (میانگین ± انحراف معیار[A]) Variation in Flavonoid & Phenolic (Mean ± SD[A])							
	فلاونوئید Flavonoid (mg QE.g-1 DW)							
	اتانول Ethanol				اتیل استات Ethyl acetate			
	1	2	3	total	1	2	3	total
	6.55± 0.44	7.70± 0.50	7.69 ±0.33	7.32 ±0.42	8.10± 0.18	**8.52± 0.27	7.10± 0.21	7.91± 0.22
	فنل کل Phenolic (mg GAE.g-1 DW)							
	اتانول Ethanol				اتیل استات Ethyl acetate			
	1	2	3	total	1	2	3	total
	56.63 ±0.38	41.62± 0.11	62.62± 0.11	53.62± 0.20	32.30± 0.35	22.60± 0.21	37.12 ±0.04	30.67± 0.20

[A] انحراف معیار، [B] کد استان، * حداقل مقدار، **حداکثر مقدار

[A] Standard deviation. [B] Province code. * Minimum. ** Maximum

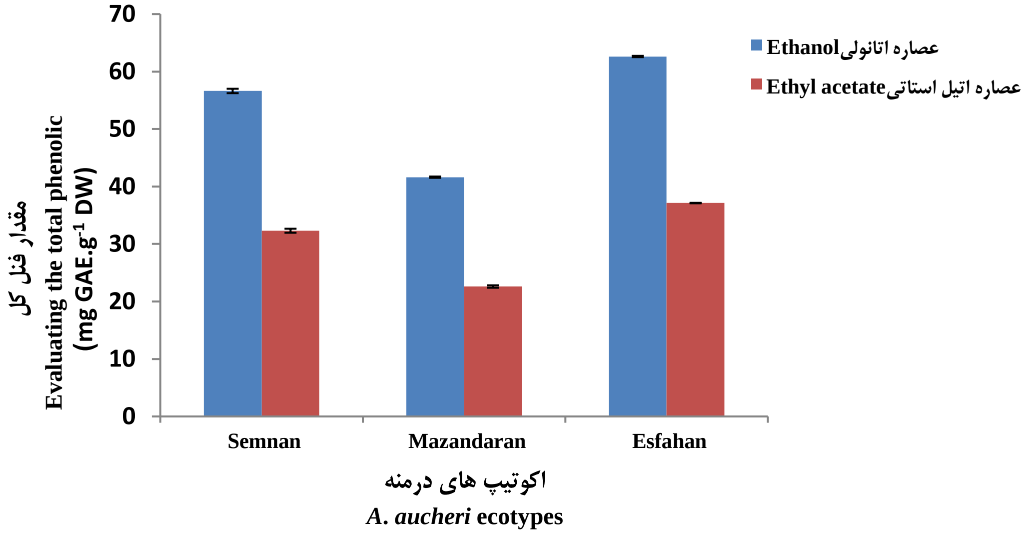


شکل ۳- ارزیابی محتوای فلاونوئیدی عصاره قطبی و غیرقطبی سه اکوتیپ گونه *A. aucheri*

Figure 3- Evaluating the flavonoid content of polar and non-polar extracts of 3 ecotypes of *A. aucheri* species

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد(SE±) می‌باشد.

The index above each column indicates the standard error



شکل ٤- ارزیابی محتوای فنل کل عصاره قطبی و غیرقطبی سه اکوتیپ گونه *A. aucheri*

Figure 4- Evaluating the total phenolic content of polar and non-polar extracts of 3 ecotypes of *A. aucheri* species

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد(SE±) می‌باشد.

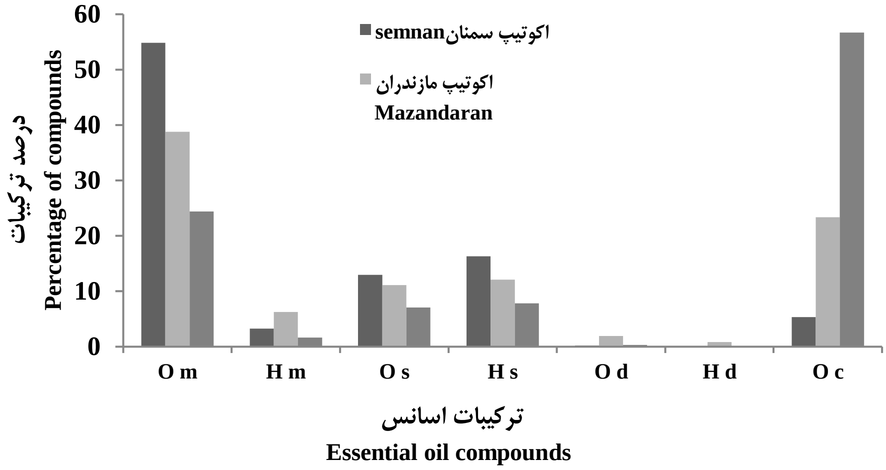
The index above each column indicates the standard error

با توجه به شکل ۳، در عصاره‌گیری توسط اتیل استات، اکوتیپ مازندران با ۰/۲۶± ۸/۵۲ (mg QE/g DW) بیشترین مقدار محتوی فلاونوئیدی را دارد. اکوتیپ سمنان با ۰/۱۷± ۸/۱۰ (mg QE/g DW) و اکوتیپ اصفهان ۰/۲۰± ۷/۱۰ (mg QE/g DW) به‌ترتیب قابل مشاهده بود که در مقابل، در عصاره‌گیری توسط اتانول، اکوتیپ مازندران با ۷/۷۰±۰/۴۹ (mg QE/g DW)، اکوتیپ اصفهان ۰/۳۳± ۷/۶۹ (mg QE/g DW) و اکوتیپ سمنان با ۶/۵۵±۰/۴۴ (mg QE/g DW) به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار محتوی فلاونوئید بودند. به‌جز اکوتیپ اصفهان بقیه اکوتیپ‌ها دارای بیشترین محتوای فلاونوئیدی در عصاره اتیل استاتی بودند.

در ارزیابی فنل کل با توجه به شکل ۴، عصاره‌گیری توسط اتانول، اکوتیپ اصفهان ۰/۱۱± ۶۲/۶۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، اکوتیپ سمنان ۰/۳۷± ۵۶/۶۲ و اکوتیپ مازندران با ۰/۱۱± ۴۱/۶۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک، در مقایسه با عصاره‌گیری توسط اتیل استات به‌ترتیب، اکوتیپ اصفهان با ۰/۰۳± ۳۷/۰۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک،

اکوتیپ سمنان ۰/۳۴± ۳۲/۳۰ و اکوتیپ مازندران ۰/۲۱± ۲۲/۵۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک عملکرد بهتری را نشان می‌دهند.

در کل، عصاره اتیل استاتی، اکوتیپ مازندران با ۰/۲۶± ۸/۵۲ (mg QE/g DW) بیشترین مقدار محتوی فلاونوئیدی و عصاره اتیل استاتی در سنجش فلاونوئید بهترین عملکرد را داشت. از سوی دیگر، عصاره اتانولی اکوتیپ اصفهان ۰/۱۱± ۶۲/۶۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک دارای بیشترین مقدار فنل کل و در مجموع عصاره اتانولی بهترین عملکرد را در سنجش فنل کل داشت.



شکل ۵- ارزیابی محتوای ترکیبات اسانس سه اکوتیپ گونه *A. aucheri*

Figure 5- Evaluating the content of essential oil compounds of 3 ecotypes of *A. aucheri* species

(oh) مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، (hm) مونوترپن‌های هیدروکربنی، (os) سزکوئیترپن‌های اکسیژن‌دار، (hs) سزکوئیترپن‌های هیدروکربنی، (od) دی ترپن‌های اکسیژن‌دار، (hd) دی ترپن‌های هیدروکربنی، (oc) دیگر ترکیبات

(oh) Oxygenated monoterpenes, (hm) Hydrocarbon monoterpenes, (os) Oxygenated sesquiterpenes, (hs) Hydrocarbon sesquiterpenes, (od) Oxygenated Diterpenes, (hd) Hydrocarbon Diterpenes, (oc) Other compounds

بررسی ترکیب‌های مختلف اسانس اکوتیپ‌های *A. aucheri* نشان داد (شکل ۵) که بین اجزای سازنده اسانس و میزان آن‌ها تفاوت وجود دارد. در کل، اکوتیپ سمنان با ۴۴ ترکیب دارای بیشترین ترکیب به‌دست آمده و به‌ترتیب اکوتیپ اصفهان با ۴۱ ترکیب و اکوتیپ مازندران با ۲۸ ترکیب کمترین تعداد ترکیب به‌دست آمده از اسانس را نشان دادند. در مجموع، فقط ۱۱ ترکیب مشترک با هم داشتند. به‌ترتیب اکوتیپ مازندران با ۱/۱۰ درصد، اکوتیپ سمنان با ۱/۰۶ درصد و اکوتیپ اصفهان با ۰/۵۲ درصد بیشترین و کمترین درصد اسانس را در ماده خشک گیاهی به خود اختصاص دادند.

از مجموع ترکیبات اسانس، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بیشترین ترکیبات را به خود اختصاص داده‌اند. در اکوتیپ سمنان ۵۴/۸۲ درصد، در اکوتیپ مازندران ۳۸/۸۱ درصد و در اکوتیپ اصفهان ۲۴/۴۱ درصد از ترکیبات را مونوترپن‌های اکسیژن‌دار در برگرفته‌اند.

بحث

در مجموع، در آزمایش FRAP بهترین بازدارندگی متعلق به عصاره اتیل استاتی می‌باشد. در کل، آزمایش DPPH با اختلاف زیادی عصاره اتانولی عملکرد بهتری نشان داد؛ که نتایج به‌دست آمده ممکن است با توجه به اختلاف ارتفاع از سطح دریا و دما باشد. از سوی دیگر، به‌منظور تأثیر بر تجمع این متابولیت‌ها، نور یک عامل ضروری است. می‌توان ترکیب‌های مختلفی از شدت نور و کیفیت نور را عاملی بر این اختلاف پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفت (Bahrami *et al.*, 2015).

طبق گزارشات توما و همکاران (Thoma *et al.*, 2020) اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و متانولی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته، ولی به‌صورت معنی‌دار برتر از عصاره هگزانی بودند و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های قطبی و غیرقطبی وجود دارد که در پژوهش حاضر در آزمایش DPPH به‌طور واضح قابل مشاهده می‌باشد.

با در نظر گرفتن این مورد که نوع حلال مورداستفاده در عصاره‌گیری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار مؤثر می‌باشد (Asgari-kafrani *et al.*, 2021)، به‌طوری‌که در بسیاری تحقیقات صورت گرفته ظرفیت احیاکنندگی عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی بیشتر از عصاره‌های غیرقطبی گزارش‌شده است (Mole & Sabale, 2015).

نتایج این تحقیق همانند نتایج پژوهشی درباره ظرفیت پاکسازی رادیکال آزاد در دو گونه بررسی‌شده، عصاره‌های قطبی (متانولی) و نیمه قطبی (اتیل استاتی) نسبت به عصاره غیرقطبی (هگزانی) فعالیت احیاکنندگی بالاتری را نشان دادند. علت فعالیت بالای عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی را می‌توان به‌دلیل توانایی استخراج ترکیبات فعال فنلی، فلاونوئیدی، کارتنوئیدها و بسیاری از ترکیبات فعال دیگر توسط این حلال‌ها دانست (Suzuki *et al*., 2002). عوامل مختلفی از جمله قطبیت حلال بر بازده استخراج عصاره اثر می‌گذارند، از سوی دیگر باید خصوصیات حلال را نیز در نظر داشت. با توجه به اینکه روش DPPH یک روش آبی است، بنابراین عصاره‌های قطبی‌تر اثر بیش‌تری از خود نشان می‌دهند که کاملاً با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد.

البته در برخی مطالعات انجام شده عصاره‌های غیرقطبی فعالیت بالاتری را نسبت به عصاره‌های قطبی و نیمه قطبی نشان داده‌اند. به‌عنوان‌مثال لیم و همکاران (Lim *et al*., 2002) فعالیت احیاکنندگی FRAPعصاره غیرقطبی دیکلرومتان گونه *Siliquastrum Sargassum* را قوی‌تر از عصاره متانولی آن گزارش داده‌اند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. بنابراین می‌توان گفت با توجه به اینکه براساس نوع گونه گیاهی میزان ترکیبات استخراج‌شده توسط حلال‌های عصاره‌گیری شده متفاوت می‌باشد، پس تفاوت اثر آنتی‌اکسیدانی یک حلال از گونه‌های مختلف به‌دلیل تفاوت در ترکیبات استخراج شده توسط آن حلال می‌باشد (Amirmohammadi *et al*., 2020). به‌طور کلی، فعالیت مهار آنزیم آلفا آمیلازی و آنتی‌اکسیدانی علاوه‌بر نوع گونه گیاهی به نوع حلال و روش سنجش فعالیت آن‌ها نیز بستگی دارد. در پژوهشی که اخیراً محققان گزارش داده‌اند، در گونه *A. lactiflora* میزان فعالیت مهار آنتی‌اکسیدانی در عصاره قطبی بیشتر از عصاره غیرقطبی (اتیل استات) گزارش شده است. این محققان بیان کردند که استخراج توسط عصاره قطبی می‌تواند فیتوکمیکال‌هایی را با بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میان سایر سیستم‌های حلال به‌دست آورد (Kooltheat *et al*., 2021). البته این مورد به روش تست آنتی‌اکسیدانی نیز مرتبط می‌باشد. علاوه‌براین، باید توجه داشت که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به ساختار شیمیایی ترکیبات فنلی و همچنین اثر هم‌افزایی یا آنتاگونیستی ترکیبات موجود در عصاره گیاه مربوط باشد (Aghaee *et al*., 2022).

یافته‌های این پژوهش می‌تواند با نتایج محققان دیگری (Yavari & Shahgolzari, 2016; Mohammadnejad Ganji *et al*., 2017) که بیان کردند میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاهان دارویی در مناطق مختلف تحت تأثیر فاکتورهای محیطی از قبیل اختلافات آب‌وهوایی و جغرافیایی مانند ارتفاع قرار دارد، دلایل مشترک داشته باشد. مطالعات انجام شده بیان داشتند که نقش اکوفیزیولوژی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را علاوه‌بر یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی، یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی نشان می‌دهد. ارتفاع از سطح دریا که نقش اساسی در رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه-های طبیعی مختلف ایفا می‌نماید با توجه به موقعیت اکوتیپ‌ها، اکوتیپ سمنان با ارتفاع ۲۳۷۷ متر از سطح دریا و میانگین دمای سالیانه ۱۴/۱ درجه سانتی‌گراد و بارش سالیانه ۱۶۱/۱ میلی‌متر دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. اکوتیپ مازندران با ارتفاع ۱۱۷۸ متر از سطح دریا، میانگین دمای سالیانه ۱۷/۶ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارندگی ۶۵۶ میلی‌متری دارای بیشترین محتوای فلاونوئیدی و اکوتیپ اصفهان با ارتفاع از سطح دریای ۲۳۱۳ متری، میانگین دمای سالیانه ۱۰/۱ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارندگی ۴۰۰ میلی‌متری بیشترین فنل کل را در مجموع نشان دادند. بنابراین، ارتفاع از جمله عوامل مهم و تعیین‌کننده در کمیت و کیفیت گیاهان محسوب می‌شود که دربرگیرنده دما و بارندگی نیز می‌باشد (Mirazadi & Pilehvar, 2013). بنابراین کاملاً مشهود است که شرایط محیطی بر میزان متابولیت‌های درمنه کاملاً تأثیر می‌گذارد، که با نتایج پژوهش کروزیناوسکایت و راودون (Kruzinauskaite & Raudone, 2021) هم‌خوانی دارد.

در پژوهشی، بیشترین محتوای فنلی عصاره قطبی (۱۳۴/۴۷ میلی‌گرم معادل اسید گالیک ۱۰۰ گرم ماده خشک) و بیشترین محتوای فلاونوئید عصاره اتیل استات (۸۷/۰۴ میلی‌گرم کوئرستین معادل ۱۰۰ گرم ماده خشک) در درمنه گزارش گردید (Lee *et al*., 2013) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در پژوهش دیگر، اتانول به‌عنوان بهترین حلال برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گزارش گردید که به دلیل توانایی اتانول برای تخریب دیواره‌های سلولی غیرقطبی از طریق فعل و انفعالات نیمه قطبی افزایش یافته است که منجر به انتشار فزاینده ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی درون سلولی می‌شود و اتانول بدون توجه به روش استخراج یکی از بهترین حلال‌های استخراج معرفی نمودند (Muflihah *et al*., 2021).

از طرفی، نتایج این تحقیق نشان داد که بین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارتباط وجود دارد که با نتایج دیگر محققین (Rezaei *et al*., 2019; Fang *et al*., 2009) مطابقت دارد. این نتایج بیانگر این امر است که با افزایش میزان فنل و فلاونوئید فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در گیاه افزایش می‌یابد. در پژوهشی، میزان فلاونوئید و مخصوصاً فنل در گونه *A. lactiflora* در عصاره‌های قطبی بیشتر از غیرقطبی به‌دست آمد (Kooltheat *et al*., 2021) که در سنجش فنل با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد.

با توجه به اینکه اکوتیپ سمنان دارای بیشترین درصد مونوترپن‌های اکسیژن‌دار می‌باشد که این ترکیبات از جمله ترکیبات

ارزشمند گیاهی و ایجادکننده عطر، طعم و رایحه غلیظ در اسانس می‌باشند، از سوی دیگر اکوتیپ مازندران دارای بیشترین درصد اسانس در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه را دارد. ترکیبات اسانس‌ها تحت تأثیر عوامل آب وهوایی، جغرافیایی و فصلی و واریته گیاه تغییر می‌کند (Najafian *et al.*, 2018).

به‌دست آوردن گیاهانی که از نظر یک اجزای اسانس غنی باشند، در صنعت و تولید مواد آرایشی و دارویی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. این اختلاف در درصد تشکیل مواد مؤثره اسانس‌ها در نقاط مختلف می‌تواند به‌دلیل تفاوت‌های اقلیمی از جمله میزان رطوبت و میزان تابش نور در اکوسیستم‌های مختلف باشد، زیرا عوامل محیطی می‌توانند باعث کاهش یا افزایش میزان تنفس و فتوسنتز در گیاهان شوند، بنابراین تغییر در نوع و میزان ترکیبات ثانویه تفاوت‌های قابل توجهی را ایجاد می‌نمایند.

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی حاضر به‌طور شفاف بیان می‌کند که گونه *A.aucheri* در اکوتیپ‌های مختلف غنی از ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی می‌باشد. از مجموع نتایج به‌دست آمده می‌توان این استنباط را نمود که قدرت فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌میزان قابل توجهی تحت تأثیر ماهیت حلال، روش استخراج و تعامل این دو بستگی دارد. با این حال، قدرت استخراج حلال، مهم‌ترین فاکتور مؤثر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که نوع حلال و روش استخراج بر میزان استخراج ترکیبات فنولیک اثر می‌گذارند. البته گیاه دارویی *A.aucheri* نیز تحت تأثیر عوامل محیطی بوده، خواص آنتی‌اکسیدانی، درصد اسانس و میزان مواد فنلی گیاه هر منطقه بستگی به پارامترهای زیادی از جمله آب‌وهوا، ارتفاع و نور و حتی غنای خاک دارد؛ بنابراین جهت جمع‌آوری یا اهلی‌سازی گیاه علاوه‌بر گونه، شرایط محیطی ایده‌آل برای تولید متابولیت مورد نظر و مقدار آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد؛ بنابراین با توجه به نوع نیاز و مقدار متابولیت مورد نظر می‌توان از منطقه مناسب جمع‌آوری و یا کشت کرد.

References

1- Aghaee, Z., Alizadeh, A., Honarvar, M., & Babadaei Samani, R. (2022). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Salvia sharifii* Rech. & Esfand from Iran. *Natural Product Research*, *36*(10), 2585-2590. https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1906241

2- Amirmohammadi, F., Azizi, M., & Nemati, S.H. (2020). Comparison of phytochemical composition and antioxidant activity of seven *Nepeta* species cultivated in Mashhad. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *21*(1), 23-40. http://dorl.net/dor/20.1001.1.16807154.1399.21.1.5.9

3- Asgari-kafrani, A., Fazilati, M., & Nazem, H. (2021). Evaluation the effect of different solvents and extraction method on phytochemical content and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract. *Food Science and Technology*, *18*(114), 133-145. https://doi.org/10.52547/fsct.18.114.133

4- Bahrami Samani, L., Fooladger, M., & Amjad, L. (2015). The effect of storage time of *Artemisia deserti* on phytochemistry and essential oil and extract yields. *Applied Chemistry*, *10*(35), 111-130(In Persian). https://doi.org/10.22075/chem.2017.715

5- Bahukhandi, A., Rawat, S., Bhatt, I.D., & Rawal, R.S. (2013). Influence of solvent types and source of collection on total phenolic content and antioxidant activities of *Acorus calamus* L. *National Academy Science Letters*, *36*, 93-99. https://doi.org/10.1007/s40009-012-0109-8

6- Benzie, I.F., & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70-76. https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292

7- Bidgoli, R.D., Pessarakli, M., Heshmati, G.A., Ebrahimabadi, A.H. (2013). Effects of topographic factors of the site on the essential oil compounds of *Artemisia aucheriaerial* parts Grown in a Mountainous region. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *44*(17), 2618-2624. http://www.tandfonline.com/action/showCitFormats?doi=10.1080/00103624.2013.803570

8- Bora, K.S., Sharma, A. (2011). The genus *Artemisia*: A comprehensive review. *Pharm Biol*, *49*(1), 101-109.

9- Bovicelli, P. (2010). Radical-scavenging polyphenols: new strategies for their synthesis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *59*(12), 1703-1710. https://doi.org/10.1211/jpp.59.12.0013

10- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, *28*(1), 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

11- Ehsani, A., Ahmdian, M., Rashvand, S., DehghaniTafti, M.A., & Zare, M. (2014). Comparison of phenology of Artemisia aucheri in semi-steppe regions of Iran. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, *21*(1), 13-24 (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijrdr.2014.8067

12- Fang, Z., Zhang, Y., Lü, Y., Ma, G., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2009). Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chemistry*, *113*, 884-8. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.102

13- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology, 94*(3), 651-715. https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3
14- Haider, F., Kumar, N., Banerigee, S., Naqvi, A., & Baggi, G. (2009). Effect of altitude on the essential oil constituents of *Artemisia roxburghiana* Besser Var. *Purpurascens* (Jacq) Hook. *Journal of Essential Oil Research*, 21, 127-33. https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700177
15- Hoareau, L., Dasilva E.J. (1999). Medicinal plants: A reemerging health aid. *Journal of Electronic Biotechnology, 2*(2), 3-4. http://dx.doi.org/10.4067/S0717-34581999000200002
16- Hosseini, S.Z., Kappas, M., Zare Chahouki, M.A., Gerold, G., Erasmi, S., & Rafiei Emam, A. (2013). Modelling potential habitats for *Artemisia sieberi* and *Artemisia aucheri* in Poshtkouh area, central Iran using the maximum entropy modeland geostatistics. *Ecological Informatics*, 18, 61-68. https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2013.05.002
17- Hosu A., Cristea, V.M., & Cimpoiu, C. (2014). Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. *Food Chemistry*, *150*, 113–118. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.153
18- Judzentiene, A., Tomi, F., & Casanova, J. (2009). Analysis of essential oils of *Artemisia aucheri* L. from Lithuania by CC, GC(RI), GC-MS and 13C NMR. *Natural Product Communications*, *4*(8), 1934578X0900400820. https://doi.org/10.1177/1934578X0900400820
19- Khalili, M., & Ebrahimzadeh, M. (2015). A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, *24*, 188-208. http://jmums.mazums.ac.ir/article-1-4858-en.html
20- Kooltheat, N., Chujit, K., Nuangnong, K., Nokkaew, N., Bunluepuech, K., Yamasaki, K., & Chatatikun, M. (2021). *Artemisia lactiflora* extracts prevent inflammatory responses of human macrophages stimulated with charcoal pyrolysis smoke. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, *26*, 2515690X211068837. https://doi.org/10.1177/2515690X211068837
21- Kruzinauskaite, J., & Raudone, L. (2021). Determination of phenolic compounds content and antiradical activity in Artemisia aucheri l. During different vegetation periods. Thesis in Universiteto mokslo publikacijos.
22- Lee, Y.J., Thiruvengadam, M., Chung, I.M., & Nagella, P. (2013). Polyphenol composition and antioxidant activity from the vegetable plant *Artemisia aucheri* L., *Australian Journal of Crop Science*, *7*(12), 1921-1926.
23- Lim, S.N., Cheung, P.C., Ooi, V.E., & Ang, P.O. (2002). Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*(13), 3862-3866. https://doi.org/10.1021/jf020096b
24- Majdan, M., Kiss, A.K., Hałasa, R., Granica, S., Osińska, E., Czerwińska, M.E. (2020). Inhibition of Neutrophil Functions and Antibacterial Effects of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) infusion-phytochemical characterization. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 947. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00947
25- Mirazadi, Z., & Pilehvar, B. (2013). The effects of some ecological factors on *Myrtus Communis* distribution in Lorestan province. *Iranian Forests Ecology*, *1*(2), 1-11. http://dorl.net/dor/20.1001.1.24237140.1392.1.2.1.9
26- Mohabatkar, H., Nosrati, M., Behbahani, M., & Rahiminejad, M.R. (2016). Antibacterial and mutagenicity activity of different species of *artimisia* spp. and their effect on proliferation of human lymphocytes. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, 26(142), 82-95. http://jmums.mazums.ac.ir/article-1-8792-en.html
27- Mohammadnejad Ganji, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A., & Akbarzadeh, M. (2017). Quantity and quality of secondary metabolites in lavender plant under the influence of ecological factors. *Nova Biologica Reperta*, *4*, 166-172. https://doi.org/10.21859/acadpub.nbr.4.2.166
28- Mohtashamnia, S. (2012). Evaluation of the most important environmental factors affecting the distribution of the genus Artemisia in Fars province (Case: Steppe grasslands in Fars). *Natural Ecosystems of Iran*, *1*(3), 75-86 (In Persian)
29- Mole, M.N., & Sabale, A. (2015). Antibacterial and antioxidant potential of ulva and ectocarpus. *Indian Journal of Applied Research*, 5, 805-808.
30- Morshedloo, M.R., Salami, S.A., & Nazeri, V., Maggi, F., & Craker, L. (2018). Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. *Industrial Crops and Products*, *119*, 183-190. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.049
31- Mozaffarian, V. (2008). Flora (Persian) Iran No. 59: compositae, Research Institute of Forests and Pastures, Tehran, 203 p. (In Persian).
32- Muflihah, Y.M., Gollavelli, G., & Ling, Y.C. (2021). Correlation study of antioxidant activity with phenolic and flavonoid compounds in 12 indonesian indigenous herbs. *Antioxidants*, *10*(10), 1530. https://doi.org/10.3390/antiox10101530
33- Najafian, S., Rowshan, V., & Mirzaee, R. (2018). Seasonal changes of myrtle essential oil composition. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *19*(1), 89-98 (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.16807154.1397.19.1.4.4

34- Nasirpour, M., Yavarmanesh, M., Mohhamadi Sani, A., Nasirpour, M., & Mohamdzade Moghadam., M. (2014). Antibacterial effect of aqueous extract of *Artemisia aucheri*, *Artemisia sieberi* and *Hyssopus officinalis* L. on the food borne pathogenic bacteria. *Food Science and Technology*, *12*(46), 73-84. (In Persian)

35- Rashvand, S., Ehsani, A., Yeganeh, H., & Sanaei, A. (2014). Studying the phenological stages of *Thymus kotschyanus* and *Artemisia aucheri* in Alamot semi-steppe rangelands, Ghazvin. *Journal of Range and Desert Research*, *21*(4), 591-603. (In Persian). https://doi.org/10.22092/ijrdr.2016.13056

36- Rezaei, J., Zare Mehrjerdi, M., Mastali, H., & Yazdani, N. (2019). Morphological and phytochemical evaluation in some populations of *Allium* from Iran. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *20*(3), 337-348. http://dorl.net/dor/20.1001.1.16807154.1398.20.3.3.4

37- Safari, D. (1994). *Pharmacognostic study of Artemisia aucheri and Artemisia sieberi in Isfahan*. pharma D Thesis. Faculty of pharmacy, the University of Medical Science, p. 128.

38- Sapkota, P. (2008). Ethno-ecological observation of Magar of Bukini, Baglung, Western, Nepal. *Dhaulagiri Journal of Sociology and Anthropology*, *2*, 227-252.

39- Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y., & Tsuji, K. (2002). An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by folin-denis assay. *Japanese Society of Food Science and Technology*, *49*(7), 507-511. https://doi.org/10.3136/nskkk.49.507

40- Taghavizadeh Yazdi, M.E., Darroudi, M., Amiri, M.S., Hosseini, H.A., Nourbakhsh, F., Mashreghi, M., Farjadi, M., Mousavi Kouhi, S.M., & Mousavi, S.H. (2020). Anticancer, antimicrobial, and dye degradation activity of biosynthesised silver nanoparticle using *Artemisia kopetdaghensis*. *Micro and Nano Letters*, *15*(14), 1046-1050. https://doi.org/10.1049/mnl.2020.0387

41- Thoma, F., Somborn-Schulz, A., Schlehuber, D., Keuter, V., & Deerberg, G. (2020). Effects of light on secondary metabolites in selected leafy greens: A review. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 497. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00497

42- Turuspekov, Y., Genievskaya, Y., Baibulatova, A., Zatybekov, A., Kotuhov, Y., Ishmuratova, M., Imanbayeva, A., & Abugalieva, S. (2018). Phylogenetic taxonomy of *Artemisia* L. species from Kazakhstan based on Matk analyses. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. *Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*, *72*(1), 29-37. https://doi.org/10.1515/prolas-2017-0068

43- Yavari, A., & Shahgolzari, S.M. (2016). Effect of some ecological factors on quality and quantity of effective ingredient of *Stachys inflate* at Touyserkan region. *Agroecology Journal*, *12*(1), 77-85.

44- Zhang, X., Zhao, Y., Guo, L., Qiu, Z., Huang, L., & Qu, X. (2017). Differences in chemical constituents of *Artemisia annua* L from different geographical regions in China. *PLoS One*, *12*(9), e0183047. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183047

45- Zheng, W., & Wan, S.Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(11), 5165-5170. https://doi.org/10.1021/jf010697n